

**Universitat de Lleida**

Facultad de Medicina

Grado en Nutrición Humana y Dietética

Trabajo de Fin de Grado

**Recubrimientos comestibles enriquecidos en extractos de origen vegetal para la conservación de aguacate fresco cortado: efectos sobre el potencial antioxidante, calidad fisicoquímica y microbiológica.**

Autora: Elena Sánchez Roca

Tutor: Robert Soliva Fortuny

Lérida, 27 de Junio de 2014

**Recubrimientos comestibles enriquecidos en extractos de origen vegetal para la conservación de aguacate fresco cortado: efectos sobre el potencial antioxidante, calidad fisicoquímica y microbiológica.**

Trabajo de Final de Grado presentado por Elena Sánchez Roca

Tutorizado por Robert C. Soliva Fortuny

## Índice

Resumen.....	4, 5 y 6
1. Antecedentes.....	7
1.1. El aguacate.....	7
1.1.1. Compuestos bioactivos.....	8
1.1.2. Vitaminas.....	10
1.2. Procesado de alimentos.....	11
1.2.1. Tratamientos tradicionales de procesado.....	11
1.2.2. Procesado no-térmico de los alimentos.....	12
1.3. Productos de cuarta gama o productos mínimamente procesados.....	13
1.4. Películas y recubrimientos comestibles.....	14
2. Hipótesis.....	16
3. Obtejetivos de la investigación.....	17
4. Material y métodos.....	18
5. Resultados .....	24
6. Discusión.....	35
7. Conclusiones.....	39
8. Bibliografía.....	40
9. Anexo.....	44

## Resumen

El procesado no térmico surge como alternativa a tratamientos convencionales de procesado basados en la aplicación de calor para una mejor preservación de las características de la fruta fresca. El presente trabajo tiene como objetivo la evaluación del empleo de recubrimientos comestibles para una mejor conservación de las propiedades antioxidantes y estabilidad fisicoquímica y microbiológica de aguacate fresco cortado. Para ello, se determinó el potencial antioxidante, capacidad antioxidante, color, firmeza, clorofilas a y b y se realizó recuentos microbiológicos. El tratamiento con diferentes recubrimientos comestibles aumentó ligeramente el potencial antioxidante global y el contenido en compuestos fenólicos de los trozos de aguacate. En cuanto la calidad microbiológica y fisicoquímica, la aplicación de estos recubrimientos comestibles también presentó resultados favorables. La inclusión de aceite esencial de citronela fue uno de los compuesto clave que afectaron a los valores de potencial antioxidante, contenido fenólico y calidad microbiológica debido a que dicho aceite presenta cantidades relevantes de compuestos fenólicos y otras sustancias de naturaleza antioxidante.

## Resumen

The non-thermal processing appears as alternative to conventional treatments of processing based on the heat application for a better preservation of the characteristics of the fresh fruit. The present essay takes as an aim the evaluation of the use of edible countings for a better conservation of the antioxidant properties and physicochemical and microbiological stability of fresh cut avocado. Because of this, it was determined the antioxidant potential, antioxidant capacity, colour, firmness, chlorophylls a and b and microbiological inventories were realized. The treatment with different edible countings increased lightly the antioxidant global potential and the content in phenolic compounds of the pieces of avocado. In all that the microbiological and physicochemical quality, the application of these edible countings also presented favourable results. The incorporation of citronella essential oil was one of key compounds that concerned the values of antioxidant potential, phenolic content and microbiological quality due to the fact that above mentioned oil presents relevant quantities of phenolic compounds and other substances of antioxidant nature.

## Resumen

El processat no tèrmic sorgeix com alternativa a tractaments convencionals de processat basats en l'aplicació de calor per una millor preservació de les característiques de la fruita fresca. El present treball té com a objectiu l'avaluació de la utilització de recobriments comestibles per a una millor conservació de les propietats antioxidants i estabilitat fisicoquímica i microbiològica de l'alvocat fresc tallat. Per a dur-ho a terme, es va determinar el potencial antioxidant, capacitat antioxidant, color, fermesa, clorofil·les a i b i es va realitzar recomptes microbiològics. El tractament amb diferents recobriments comestibles va augmentar lleugerament el potencial antioxidant global i el contingut en compostos fenòlics dels trossos d'alvocat. Pel que fa a la qualitat microbiològica i fisicoquímica, l'aplicació d'aquests recobriments comestibles també va presentar resultats favorables. La inclusió d'oli essencial de citronel·la va ser un dels compostos clau que van afectar als valors de potencial antioxidant, contingut fenòlic i qualitat microbiològica degut a que aquest oli presenta quantitats rellevants de compostos fenòlics i altres substàncies de naturalesa antioxidant.

## 1. Antecedentes

Fruta fresca, según el Código Alimentario Español, es aquella destinada al consumo inmediato sin sufrir ningún tratamiento que afecte a su estado nutricional. Este grupo de alimentos forma parte de los alimentos vegetales y junto con las verduras y hortalizas proporcionan un gran número de vitaminas, minerales, fibra y agua. Sin embargo, se distinguen de las verduras y hortalizas porque contienen un elevado porcentaje en carbohidratos, por lo que se consideran como un grupo aparte (Vidal-García, 2009).

El contenido nutritivo de las frutas depende de las variedades y del grado de maduración. Su componente básico es el agua, que constituye entre el 75-90% del peso de la parte comestible (Vidal-García, 2009). Su composición en azúcares, vitaminas, minerales y fibra es también importante en este grupo de alimentos, siendo en cambio minoritaria su composición en proteínas y lípidos.

El aguacate y las aceitunas, aun considerándose dentro del grupo de frutas, presentan un alto contenido de grasa; las aceitunas son ricas en grasa monoinsaturada (ácido oleico) y los aguacates en grasa poliinsaturada (Vidal-García, 2009).

### 1.1. El aguacate

El aguacate es originario de América Central siendo cultivado por primera vez en México ya en el año 500 AC . La variedad Hass se caracteriza por un alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados (MUFA). La presencia de estos ácidos grasos mejoran la biodisponibilidad de los nutrientes y compuestos fisicoquímicos que también se encuentran en esta fruta (Taylor, Dreher, & Davenport, 2013).

La composición general nutricional del aguacate se puede observar en la tabla 1. Como se puede ver en la tabla 1, cabe destacar que el aguacate es una fruta con un alto contenido en aceites grasos monoinsaturados, fibra y vitamina C y E.

Tabla 1. Composición general del aguacate (Taylor, Dreher, & Davenport, 2013).

<b>Nutrientes (valor por 100g)</b>			
Agua (g)	72'3	Lípidos totales (g)	15'4
Energía (Kcal)	167	Ácidos grasos saturados (g)	2'13
Proteína (g)	1'96	Ácidos grasos monoinsaturados (g)	9'8
Carbohidratos (g)	8'64	Ácidos grasos polinsaturados (g)	1'82
Azúcares totales (g)	0'3		
Fibra total (g)	6'8	Colesterol (mg)	0
<b>Micronutrientes (valor por 100g)</b>			
Calcio (mg)	13	Vitamina C (mg)	8'8
Iron (mg)	0'61	Tiamina (mg)	0'08
Magnesio (mg)	29	Riboflavina (mg)	0'14
Fósforo (mg)	54	Niacina (mg)	1'91
Potasio (mg)	507	Ácido pantoténico (mg)	1'46
Sodio (mg)	8	Vitamina B6 (mg)	0'29
Zinc (mg)	0'68	Folato(μg)	89
Manganesio (mg)	0'15	Vitamina B12 (μg)	0
Selenio (ug)	0'4	Vitamina A (μg)	7
Caroteno beta (μg)	63	Vitamina E (alfa-tocoferol) (mg)	1'97
Caroteno alfa (μg)	24		
Criptoxantina beta (μg)	27	Vitamina K <sub>1</sub> (μg)	21
Luteína y Zeaxantina (μg)	271		

#### 1.1.1. Compuestos bioactivos.

Los compuestos bioactivos o también llamados nutraceuticos, son sustancias tanto esenciales como no esenciales, como pueden ser las vitaminas o los polifenoles, que se encuentran en la naturaleza, forman parte de la dieta humana y tienen actividad biológica. Estas sustancias, presentes como constituyentes naturales en los alimentos, no tienen una función nutricional clásicamente definida sino que proporcionan beneficios para la salud (Biesalski et al., 2009).



Dentro de este grupo de compuestos bioactivos se puede encontrar:

- Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son los antioxidantes más abundantes en la dieta humana, producidos por el metabolismo secundario de las plantas como respuesta a las situaciones de estrés. Éstos compuestos están formados por un anillo aromático que contiene uno o más grupos hidroxilo. Dependiendo del número de anillos fenólicos y los elementos estructurales que se unen a éstos existen varias clases de compuestos fenólicos (Andrés-Lacueva et al., 2010). Los compuestos fenólicos se dividen en dos grandes grupos, flavonoides y no flavonoides.

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos. Tienen excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo (Culebras & Tuñón, 2002). Dentro de éste grupo podemos encontrar: flavononas, flavonas, dihidroflavonoles, flavonoles, flavantrioles, antocianidinas, isoflavonas y proantocianidinas.

Por otro lado, los compuestos no flavonoides están formados por un anillo aromático sustituido por un alcohol en una o más posiciones. Se clasifican acorde al número de carbonos que tienen, dentro de éste grupo podemos encontrar: fenoles simples, ácidos benzoicos, taninos hidrolizables, acetofenonas y ácidos fenilacéticos, ácidos cinámicos, cumarinas, benzofenonas, xantonas, estilbenos, chalconas, lignanos y secoiridoides.

- Carotenoides

Los carotenoides son tetraterpenoides sintetizados en las plantas y otros organismos fotosintéticos, así como en algunos organismos no fotosintéticos como bacterias, levaduras y mohos (Stahl & Sies, 2005). La mayoría de los carotenoides se componen de una cadena central de carbonos en la que se van

alternando enlaces simples y dobles y poseen diferentes grupos cíclicos o acíclicos.

En el reino vegetal se encuentran en forma de pigmentos cuyos colores son amarillo, naranja y rojo. Además juegan un papel importante en las frutas y vegetales contra el daño foto-oxidativo, es decir están involucrados en mecanismos de protección contra la oxidación. Los carotenoides limpian eficazmente los radicales peroxilo, especialmente en presencia de bajas concentraciones de oxígeno, y contribuyen a la defensa contra la peroxidación lipídica. En condiciones específicas carotenoides también pueden actuar como prooxidantes (Stahl & Sies, 2005)

Según su composición química se clasifican en forma carotenos o xantofilas. Dentro del grupo de carotenos destacan  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno, y licopeno cuya estructura se compone de átomos de carbono e hidrógeno. La xantofilas, sin embargo, además de átomos de carbono e hidrógeno, contienen al menos un átomo de oxígeno. Dentro de las xantofilas destacan: la zeaxantina, la luteína,  $\alpha$  y  $\beta$ -criptoxantina, cantaxantina y la astaxantina con grupos hidroxil-y ceto como elementos estructurales (Stahl & Sies, 2005).

#### 1.1.2. Vitaminas

##### Vitamina C (ácido ascórbico)

La vitamina C es un antioxidante hidrosoluble con un alto poder reductor y que además, se considera esencial, ya que no puede ser sintetizada por el organismo.

Se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal, en los que aparece de manera natural bajo dos formas químicas interconvertibles: ácido ascórbico (forma reducida) y ácido dehidroascórbico (forma oxidada), ambas con similar acción biológica.

En la naturaleza se puede encontrar generalmente en frutas y verduras, ya sea en mayor o menor contenido. Las frutas con mayor contenido en vitamina C son las que tienen un pH más ácido, ya que el medio ácido hace que la vitamina se encuentre más estable (Ramírez-Tortosa y Quiles-Morales, 2005 ).

Las funciones biológicas del ácido ascórbico se basan en su capacidad reductora en una gran variedad de reacciones bioquímicas. La principal función de la vitamina C es antioxidante y puede actuar intra- y extracelularmente.

## 1.2. Procesado de los alimentos

### 1.2.1. Tratamientos tradicionales de procesado

Las tecnologías térmicas han sido la base de la conservación y producción de alimentos durante muchos años. Es bien conocido que la temperatura es uno de los principales mecanismos de conservación que puede aplicar el procesador de alimentos para suministrar productos alimentarios comercialmente estériles; es decir libres de microorganismos patógenos y de deterioro que probablemente crecen durante la distribución normal y la vida comercial del producto. Otra consecuencia de la aplicación de calor en la elaboración de alimentos es que producen una modificación de su textura y sabor, facilitando así la obtención de la amplia variedad de productos que actualmente están disponibles para el consumidor (Richardson et al., 2001).

Los alimentos son sometidos a tratamientos térmicos principalmente para inactivar los microorganismos patógenos y alterantes, inactivar procesos enzimáticos y minimizar los cambios de flavor originados por lipasas y actividad proteolítica. La intensidad del procesado térmico puede variar desde tratamientos suaves hasta tratamientos más severos, y éste puede inducir cambios físicos y reacciones químicas que afecten de forma ventajosa o adversamente tanto a la vida útil como a otras características de calidad de los productos (Lewis, 2006).

Por lo tanto, la seguridad alimentaria y la calidad de los alimentos son las dos implicaciones más importantes relacionadas con el procesado de los alimentos. En cuanto a la seguridad, el problema de mayor entidad está relacionado con la inactivación de microorganismos patógenos, lo que supone un tema de salud pública. Por otro lado, el procesado debe tener como objetivo la minimización de la pérdida de nutrientes y el aseguramiento de las características sensoriales, tales como apariencia, color, flavor y textura. Tanto la seguridad alimentaria como la calidad de los alimentos son puntos muy importantes para que el

producto llegue en perfectas condiciones al consumidor y sea aceptado por éste (Lewis, 2006).

Los cambios físico-químicos que tienen lugar durante el procesado y el almacenamiento son, por consiguiente, los factores que determinan la calidad del producto en términos tanto de propiedades sensoriales como de aporte de nutrientes al consumidor. Los cambios que experimenta el alimento dependen del tiempo y la temperatura del proceso, de la composición y propiedades del alimento y del ambiente (Hall y Pither 1991).

La textura se altera por la destrucción/alteración de las membranas celulares semipermeables, y la rotura de las estructuras intercelulares con el resultado de una separación celular. Pero también puede deberse a la desnaturalización proteica y a la gelatinización del almidón. El color viene determinado por el estado y la estabilidad de algunos pigmentos naturales o añadidos y por el desarrollo de algún tipo de coloración durante el procesado y el almacenamiento. El procesado mediante tratamiento térmico puede producir la descomposición de éstos pigmentos (antocianinas,  $\beta$ -caroteno, licopeno, clorofilas, hemoglobina y betanina), pero además los fenómenos de oxidación y las reacciones de Maillard pueden provocar la aparición de coloraciones anómalas. Los sabores básicos (dulce, amargo, ácido y salado) son mínimamente afectados por la conservación mediante calor, puesto que los cambios en la composición proximal son poco importantes. Sin embargo, sí se aprecian cambios importantes en el contenido en compuestos volátiles que determinan el flavor de los alimentos. (Hall y Pither 1991). Actualmente, los consumidores buscan productos con características similares a las de los alimentos frescos en cuanto a calidad sensorial y contenido de nutrientes. Por lo tanto, se precisan técnicas de procesado alternativas que puedan lograr la inactivación microbiana manteniendo el contenido nutritivo de los alimentos frescos (Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre 2011).

#### 1.2.2. Procesado no-térmico de los alimentos.

Las tecnologías emergentes de procesado no - térmico de los alimentos han ganado importancia en los últimos años con el objetivo de sustituir o

complementar la acción de los tratamientos térmicos tradicionales. El procesado no-térmico ofrece la ventaja de someter a los alimentos a un procesado a baja temperatura y así, mantener las características de los alimentos frescos mientras también produce la inactivación de microorganismos alterantes y enzimas (Vega-mercado et al., 1997).

Las nuevas tecnologías de procesado de los alimentos se centran en la preservación de la calidad de los alimentos y por tanto, se habla frecuentemente alimentos mínimamente procesados (Butz & Tauscher, 2002). Entre estas nuevas tecnologías de procesado de alimentos para mejorar la conservación destacan los pulsos de luz ultravioleta (UV), los ultrasonidos, los campos eléctricos pulsados (PEF) y las altas presiones (HPP) junto con los recubrimientos comestibles y envasado bajo atmósfera protectora (Butz & Tauscher, 2002).

La utilización de tratamientos no térmicos para el procesado hace que el contenido nutricional se preserve mejor tras la aplicación de este tratamiento (Barbosa-Cánovas, G.V. y Bermúdez-Aguirre, D., 2011).

### 1.3. Productos de cuarta gama o productos mínimamente procesados.

El término "alimentos de cuarta gama" comprende aquellos productos vegetales semipreparados o listos para ser consumidos, que habiendo no sido sometidos a un tratamiento térmico han experimentado operaciones de procesado sencillas (lavado, troceado y envasado). La caducidad de dichos productos suele estar entre los 7 y 15 días, según producto, y su envasado se realiza en bandejas o bolsas especiales, tras rigurosos controles de selección y calidad. Los alimentos pueden ser envasados mezclados o no, y en diferentes formatos, tamaños y pesos (Santana et al., 2013).

El procesado mínimo incluye diversas tecnologías de procesamiento no térmicas que garantizan la seguridad del producto, manteniendo la apariencia fresca de los productos hortofrutícolas. Las diferentes etapas de procesamiento mínimo de productos vegetales no sólo afectan a la seguridad y la calidad sensorial, sino también puede causar cambios en la calidad nutricional y las propiedades que promueven la salud de los productos finales. El objetivo del procesado mínimo

es lograr alimentos de calidad y características similares a los frescos, y por ello, requiere la combinación de diferentes estrategias y tecnologías para ayudar a reducir los procesos de degradación en frutas y verduras frescas recién cortadas (De Ancos et al, 2011). El contenido de compuestos bioactivos en productos vegetales mínimamente procesados puede variar con el genotipo, el estrés ambiental, condiciones de crecimiento, y las condiciones de almacenamiento y de procesamiento. Por ello, la selección de cultivos y prácticas agrícolas en combinación con las tecnologías específicas para reducir los efectos negativos del procesamiento son necesarias para obtener productos vegetales mínimamente procesados con un elevado contenido en compuestos bioactivos (De Ancos, B., et al, 2011).

#### 1.4. Películas y recubrimientos comestibles.

Una estrategia para ofrecer productos mínimamente procesados con propiedades equiparables a las de la fruta fresca consiste en proteger la superficie con el fin de minimizar la exposición al medio ambiente del producto a conservar y establecer barreras a la humedad, al oxígeno, así como al movimiento de solutos dentro del alimento. La protección de la superficie de los alimentos puede darse con el uso de películas y recubrimientos comestibles (Barbosa-Cánovas 2012).

Los componentes para fabricar las películas y los recubrimientos comestibles pueden dividirse en tres grupos: hidrocoloides, lípidos y mezclas de ambos (composites). En adición a los tres componentes principales, se destaca la presencia de plastificantes, los cuales reducen la fragilidad de la protección. Estos plastificantes reducen las fuerzas intermoleculares y favorecen la movilidad de las cadenas poliméricas, es decir, mejoran la flexibilidad y la posibilidad de extensión. (Barbosa-Cánovas 2012).

Entre las ventajas del empleo de recubrimientos comestibles en productos de cuarta gama cabe destacar la reducción de las pérdidas de agua por transpiración, del intercambio de gases involucrados en los procesos metabólicos, así como de las propiedades mecánicas del alimento. Además, los recubrimientos pueden actuar como base para la incorporación de sustancias

que puedan contribuir a una mejor conservación del producto, mejorando sus propiedades fisicoquímicas y nutritivas (Barbosa-Cánovas 2012).

## 2.Hipótesis

Las frutas de cuarta gama son productos mínimamente procesados obtenidos mediante una manipulación extremadamente liviana. La utilización de tratamientos térmicos para la conservación es habitual por parte de la industria y tiene como objetivo garantizar la seguridad del consumidor. Las tecnologías de procesado no térmico han cobrado gran importancia estos últimos años, ya que ofrecen la ventaja de someter a los alimentos a un procesado a baja temperatura y así, mantener las características de los alimentos frescos mientras también produce la inhibición del crecimiento de microorganismos alterantes y enzimas.

Una estrategia para ofrecer productos mínimamente procesado con propiedades equiparables a las de la fruta fresca consiste en proteger la superficie del producto y minimizar la exposición al medio ambiente. La protección de la superficie de los alimentos puede conseguirse mediante la aplicación de recubrimientos comestibles. Los estudios disponibles hasta el momento indican que el empleo de recubrimientos comestibles son una alternativa viable para la conservación de fruta cortada. Por lo tanto, la incorporación de extractos vegetales tales como aceites esenciales puede aportar beneficios a la conservación de estos productos, puesto que en su mayoría contienen sustancias con características antimicrobianas y/o antioxidantes.

En consecuencia, es preciso conocer qué efecto presentan este tipo de formulaciones, no solamente sobre la estabilidad microbiológica y físicoquímica de los productos recubiertos sino especialmente sobre el potencial antioxidante de la fruta.



### 3. Objetivos de la investigación

El presente trabajo final de grado ha tenido como objetivo el estudio del potencial antioxidante y de la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de aguacate fresco cortado conservado mediante la incorporación de recubrimientos comestibles. Dicho objetivo general puede desglosarse en los siguientes objetivos específicos:

- ❖ Determinar el potencial antioxidante global de aguacate fresco cortado sometido a la aplicación de cubiertas comestibles de diferente composición.
- ❖ Cuantificar el efecto de la aplicación de los recubrimientos comestibles formulados sobre el contenido en compuestos fenólicos en aguacate fresco cortado.
- ❖ Evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica de la fruta sometida a los diferentes recubrimientos formulados.

#### 4. Material y métodos

##### **Recepción de la muestra y preparación**

Los aguacates escogidos para la realización de este trabajo pertenecieron a la variedad Hass, la de mayor importancia entre las diferentes variedades producidas en España y en el mundo. Los frutos, de forma oval y piel rugosa se caracterizan por un cambio de color de la piel durante la maduración, de verde a negro (Taylor, Dreher y Davenport, 2013). Todas las piezas de fruta se adquirieron de un hipermercado al por menor de Lleida en un estado de madurez temprana. Antes de ser transportadas, se seleccionaron y se descartaron aquellas frutas defectuosas. Una vez recibidas las frutas en el laboratorio, se seleccionaron y se almacenaron a  $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

##### **Aguacate fresco cortado**

Para la preparación del producto, las frutas enteras se pelaron y se cortaron en mitades eliminando el hueso. La pulpa resultante se cortó hasta obtener cubos de aproximadamente  $2'5\text{ cm}^2$ .

Una vez obtenidos los trozos de fruta, se crearon tres lotes con el fin de ser destinados a distintos tratamientos y poder evaluar la efectividad de su recubrimiento mediante geles de alginato con o sin incorporación de un aceite esencial de citronela:

-Trozos de aguacate sin recubrir.

-Trozos de aguacate recubiertos con una disolución de alginato sódico 1'25% (p/v).

-Trozos de aguacate recubiertos con una disolución de alginato 1'25% (p/v)+ aceite esencial de citronela 0'5% (v/v).

##### **Preparación de soluciones formadoras de películas**

Se preparó la solución coloidal de alginato sódico utilizando una concentración del 1,25% (p/v). El biopolímero se disolvió en agua destilada a  $75^{\circ}\text{C}$  y 2000 rpm en una placa de calentamiento con agitación hasta obtener una disolución uniforme. Cuando la disolución estuvo a temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$

aproximadamente), se adicionó glicerol 1'5% (v/v). Finalmente se colocó en una placa de agitación a 2000 rpm hasta su homogeneización completa.

Para la formación de recubrimientos con incorporación de aceite esencial de citronela, éste fue agregado a la disolución de alginato sódico en una concentración de 0'5% (v/v) a temperatura ambiente.

Asimismo, se realizó la preparación de la disolución formadora del recubrimiento, que contenía  $\text{CaCl}_2$  al 2% (p/v) en agua destilada. Además en dicha disolución se incorporó Cisteína al 2% (p/v), ácido cítrico al 1% (p/v) y lactato de calcio al 1% (p/v) en 50ml de agua destilada. Esta disolución actuó formando entrecruzamientos entre las cadenas de polímero y facilitando la obtención de un gel con las características mecánicas necesarias.

Se tomó el aguacate fresco cortado y se sumergió en las distintas disoluciones de alginato sódico durante un minuto. Posteriormente se depositó en un colador para eliminar el exceso de disolución. Una vez eliminado el exceso de disolución de alginato sódico, se sumergió en la disolución de  $\text{CaCl}_2$  durante 2 minutos y al igual que anteriormente, se depositó en un colador para eliminar el exceso de disolución.

**Envasado de las muestras** Se colocaron 25 g en cada bandeja de prolipropileno y se envasó mediante una termoselladora de vacío compensado ILPRA Food Pack Basic V/6 (ILPRA S. CP. Vigevano, Italia). La permeabilidad al  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  del film sellado (64 $\mu\text{m}$ ) de prolipropileno fue de 110 y 500  $\text{cm}^3/\text{m}^2$  día bar a 23°C y 0% de humedad relativa (ILPRA Systems España, S.L Mataró, Spain). Las bandejas se almacenaron en ausencia de luz. La evolución del contenido de compuestos bioactivos, el potencial antioxidante y calidad fisicoquímica y microbiológica se realizó justo después del envasado y posteriormente cada 3 días durante un periodo de 12 días.

## **Compuestos fenólicos totales**

Los compuestos fenólicos se extrajeron con una disolución de metanol (80:20). El contenido fenólico de los extractos obtenidos se cuantificó usando el método de Singelton et al. (1999), basado el empleo del reactivo de Folin-Ciocalteau. Se mezclaron 0'3 ml de extracto polifenólico, 1'5 ml de reactivo Folin-Ciocalteau y 1'2 ml de una disolución de carbonato sódico al 7'5% (v/v). Después de 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad, se midió la absorbancia a 765 nm. Las concentraciones de fenoles totales de las muestras se obtuvieron mediante la comparación con las rectas de calibrado realizada con ácido gálico. Para ello, se construyó la curva de calibrado de 5 niveles de concentración de ácido gálico (0'02, 0'04, 0'06, 0'08, 0'1 mg/ml).

## **Capacidad antioxidante**

### **a. Obtención de los extractos**

La actividad antioxidante se determinó por el método del secuestro del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y a través del radical estable 2,2'-azino-di-(3-etil-benzotiazolina-6-sulfonato)(ABTS). Se realizó una doble extracción, hidrofílica y lipofílica. Para la obtención del extracto hidrofílico se tomaron 5 g de muestra y se centrifugaron a 14000rpm, 15 minutos y 4°C (Centrifuga AVANTI™ J-25mBeckman Instruments Inc., Fullerton CA, USA) con 10 ml de metanol al 80% (v/v). Para el extracto lipofílico se tomaron 6 g de muestra y se centrifugaron a 9400 RCF (xg), 15 minutos y 4°C (Centrifuga AVANTI™ J-25 Beckman Instruments Inc., Fullerton CA, USA) con 10 ml de acetona pura.

### **b. Medida de la capacidad antioxidante por el método ABTS**

Una alícuota de 0'03 ml del sobrenadante hidrofílico o lipofílico (disuelta 1:4 extracto/ $\beta$ -ciclodextrina al 0'7% en agua y acetona al 50%) obtenido se mezcló con 2'97 ml de una solución etanólica de ABTS (1'2 ml/100 ml). Se leyó la absorbancia inicial y a los 6 minutos de la muestra a una longitud de onda de 734 nm.

### **c. Medida de la capacidad antioxidante por el método DPPH**

Una alícuota de 0'2 ml del sobrenadante hidrofílico o lipofílico (disuelta 1:4 extracto/ $\beta$ -ciclodextrina al 0'7% en agua y acetona al 50%) obtenido se mezcló

con 2'8 ml de una solución metanólica de DPPH (3'75 mg/150 ml). Después de 30 minutos en la oscuridad, se leyó la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 515 nm.

El porcentaje de inhibición con respecto la absorbancia inicial obtenida por la solución metanólica de DPPH o etanólica del ABTS se expresó en micromoles equivalentes de Trolox por 100g de muestra. Para ello se llevó a cabo una ecuación de regresión relacionando la concentración de Trolox y el % de inhibición para cada una de las soluciones metanólicas y etanólicas para realizar la curva de calibrado.

### **Clorofilas**

La cuantificación de clorofilas se obtuvo a partir de 1g de muestra fresca y se centrifugó a 9400 RCF (xg), 15 minutos y 4°C (Centrifuga AVANTI™ J-25mBeckman Instruments Inc., Fullerton CA, USA) con una solución de carbonato de calcio al 1% (p/v) en 10 ml de acetona pura. Se recuperó el sobrenadante y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 663 y 643 nm.

La cuantificación se realizó a partir de la ecuación:

$$\text{Clorofila A} = \frac{(12.3 \cdot A_{663} - 0.86 \cdot A_{645}) \cdot V}{1000 \cdot d \cdot w}$$

$$\text{Clorofila B} = \frac{(19.3 \cdot A_{645} - 3.6 \cdot A_{663}) \cdot V}{1000 \cdot d \cdot w}$$

### **Color**

El color de las diferentes muestras de aguacate fue medurado con el colorímetro (Minolta Sensing Inc, Minolta Chroma Meter Model CR-400, Osaka, Japan) a tiempo 0, 3, 6, 9 y 12. Se realizó nueve lecturas en las que se midió los parámetros L\* (luminosidad), a\* (rojo-verde) y b\* (amarillo-azul) de cada muestra.

## **Firmeza**

La firmeza de las diferentes muestras se evaluó mediante un TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., England, UK) a tiempo 0, 3, 6, 9 y 12. Para ello se determinó la fuerza máxima de penetración de un cilindro de 25 mm de altura y 4mm de diámetro a una velocidad de  $5\text{mm s}^{-1}$  en la pulpa del aguacate. El cilindro fue colocado perpendicularmente a la fruta con el fin de penetrar en el centro de ésta. Se realizaron seis repeticiones de cada muestra y los resultados se expresaron en Newtons (N).

## **Recuentos microbiológicos**

Para realizar el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se llevó a cabo el protocolo establecido según la norma ISO 4833 (1991) y para el recuento de mohos y levaduras se siguió la norma ISO 7954 (1988). En condiciones estériles 10 g de aguacate cortado se homogeneizaron durante 2 min con 90 ml de peptona salina al 0.1% en agua con un Stomacher Lab Blender (Steward medical, London, England). En ambos casos, se preparó un banco de diluciones mezclando 1 ml de esta disolución con 9 ml de peptona salina (PS) previamente esterilizada. Una vez realizado el banco de diluciones, se procedió a realizar la siembra de placas Petri con PCA (Palte Count Agar), en el caso de microorganismos aerobios mesófilos, mientras que para el recuento de mohos y levaduras, la siembra se realizó en placas Petri con PDA (Agar Papa Dextrosa). En cada placa se colocó 1 ml de la dilución correspondiente y se añadió de 15 a 20 ml de medio mediante la técnica vaciado en placa. Finalmente las placas fueron almacenadas a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 3 días en el caso de recuento de aerobios mesófilos  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 5 días para el recuento de mohos y levaduras.

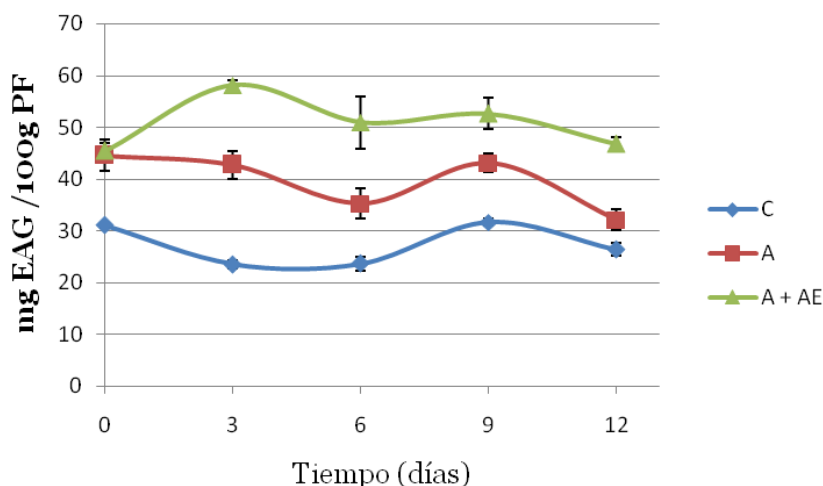
## **Análisis estadístico**

Después de realizar las determinaciones analíticas de la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, color, firmeza, clorofilas y microorganismos se llevó a cabo un análisis estadístico. Para ello se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de los datos obtenidos que se llevó a cabo mediante el programa Statgraphics Plus 5.1. A su vez se llevaron a cabo pruebas de rango múltiple para identificar diferencias significativas entre los valores obtenidos siguiendo el criterio de mínima diferencia significativa (LSD).

## 5.Resultados

### Fenoles Totales

Los valores de contenido en compuestos fenólicos determinados mediante el método Folin-Ciocalteu para muestras de aguacate fresco cortado sometido a diferentes tratamientos se observa en la figura 1.



**Figura 1. Contenido fenólico en muestras de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela.**

Se puede observar como los trozos de aguacate recubiertos con formulaciones con base de alginato sódico inicialmente presentaron un mayor contenido de compuestos fenólicos (44'6 mg EAG/100g PF) que las muestras sin recubrir (31'04 mg EAG/100g PF)

De acuerdo con el análisis de varianza (tabla 4 del anexo), tanto el tiempo de almacenamiento como el tipo de tratamiento afectaron significativamente ( $p < 0,05$ ) al contenido de compuestos fenólicos de los trozos de aguacate.

En general, el contenido en compuestos fenólicos se mantuvo a lo largo del almacenamiento con una ligera tendencia hacia la disminución. Ello se observa especialmente en las muestras recubiertas con alginato sódico sin incorporación de aceite esencial de citronela. En cambio, las muestras recubiertas con alginato

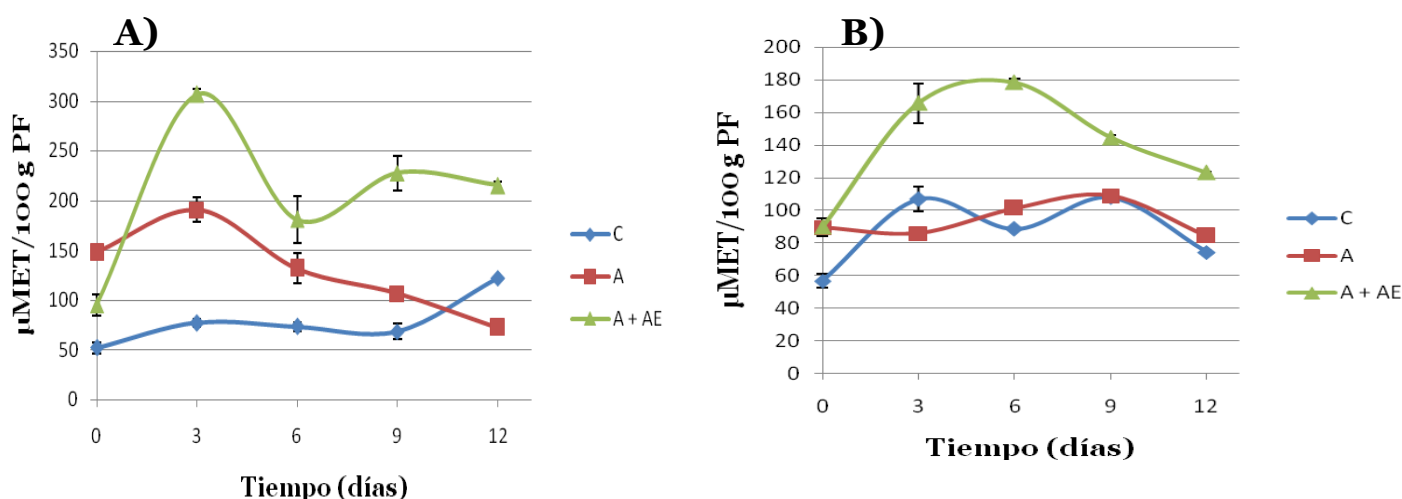


y aceite esencial de citronela mantuvieron el contenido fenólico inicial hasta el final del almacenamiento.

Con respecto al efecto de los recubrimientos, cabe destacar que los trozos de fruta recubiertos con alginato y aceite esencial de citronela presentaron los mayores contenidos de compuestos fenólicos a lo largo de todo el almacenamiento, seguidos de los recubiertos solo con alginato.

### Capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica (método DPPH)

Los valores de potencial antioxidante de extractos hidrofílicos y lipofílicos de aguacate, determinados mediante el método DPPH, se pueden observar en la figura 2.



**Figura 2. Capacidad antioxidante (método DPPH) de extractos hidrofílicos y lipofílicos de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela.**

Tal como se observa en la figura 2A, los extractos hidrofílicos de las muestras recubiertas con formulaciones con alginato sódico presentaron una mayor capacidad antioxidante inicial (147'72 µMET/100g PF), seguidas de las tratadas con alginato sódico y aceite esencial de citronela (95,14 µMET/100g PF) y de las muestras sin recubrir (52'22 µMET/100g PF).

Las muestras recubiertas con formulaciones de alginato sódico y aceite esencial de citronela y las que no fueron recubiertas presentaron valores crecientes de actividad antioxidante hidrofílica a lo largo del almacenamiento. Sin embargo, no ocurrió lo mismo con aquellas muestras recubiertas con alginato sódico y cuyos valores iniciales descendieron desde 147'72  $\mu$ MET/100g PF hasta 72'08  $\mu$ MET/100g PF al cabo de 12 días de almacenamiento.

Como se puede observar en la Figura 2B, los valores de capacidad antioxidante de los extractos lipofílicos de aguacate presentaron valores similares justo después del procesado. No obstante, la capacidad antioxidante de los extractos lipofílicos (89,57  $\mu$ MET/100g PF) fue sensiblemente inferior a los valores obtenidos para los extractos hidrofílicos de aguacate (147,72  $\mu$ MET/100g PF). La tendencia general de las muestras durante el almacenamiento fue similar a la de las muestras hidrofílicas.

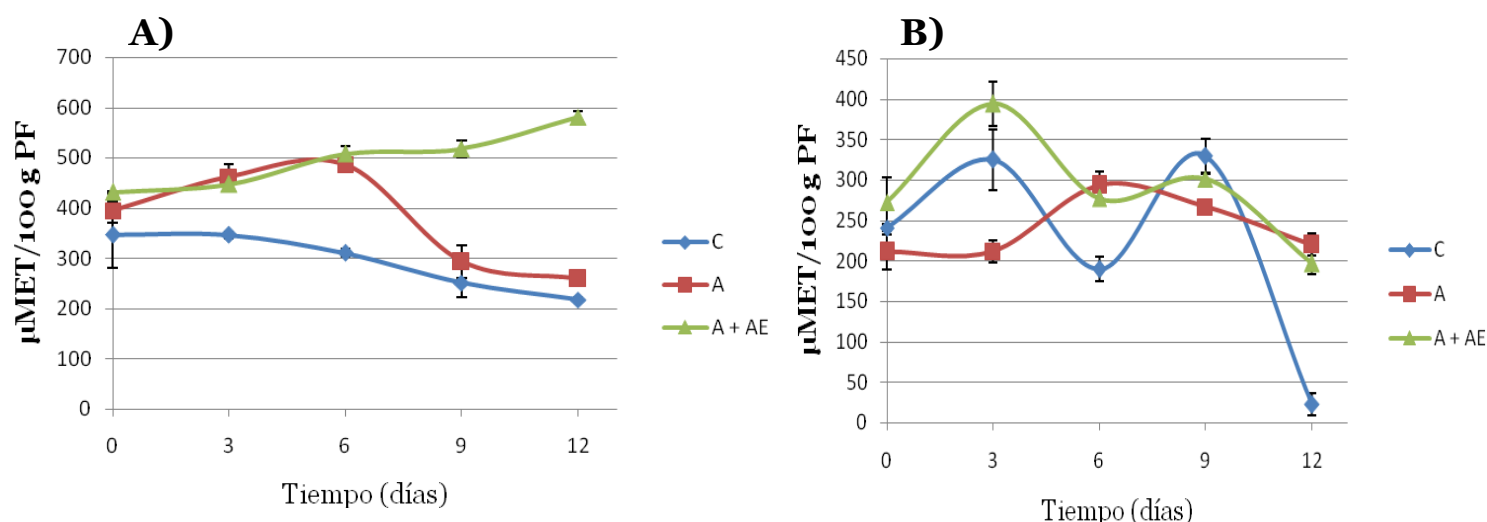
De acuerdo con los resultados del análisis de varianza realizados, los recubrimientos aplicados afectaron significativamente ( $p < 0,05$ ) a la capacidad antioxidante de las muestras (tabla 5 y 6 del anexo).

Cabe destacar que los trozos de aguacate recubiertos con alginato sódico y aceite esencial de citronela presentaron los valores más altos de capacidad antioxidante a lo largo de todo el almacenamiento (46'76  $\mu$ MET/100g PF). Ello contrasta con los valores de los trozos no recubiertos, que mostraron un menor potencial antioxidante.

En cuanto a los extractos lipofílicos, el empleo del efecto de los recubrimientos presentó alguna diferencia. Los extractos lipofílicos de aguacate cortado recubierto con formulaciones de alginato sódico y aceite esencial de citronela presentaron valores significativamente ( $p < 0,05$ ) más altos a lo largo del almacenamiento, mientras que los obtenidos a partir de muestras con cubierta de alginato y de muestras no recubiertas mantuvieron valores similares de capacidad antioxidante a lo largo del almacenamiento.

### Capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica (método TEAC)

Los valores de potencial antioxidante de extractos hidrofílicos y lipofílicos de aguacate, determinados mediante el radical ABTS, se pueden observar en la figura 3.



**Figura 3. Capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica (método TEAC) en muestras de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela.**

Tal como se observa en la figura 3A, los extractos hidrofílicos de muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela presentaron mayor potencial antioxidante inicial ( $431'29 \mu\text{MET}/100 \text{ g PF}$ ), seguidas de las recubiertas con formulaciones de alginato sódico ( $394'86 \mu\text{MET}/100 \text{ g PF}$ ), y de las muestras sin recubrir ( $346'83 \mu\text{MET}/100 \text{ g PF}$ ).

Tanto las muestras recubiertas con formulaciones de alginato sódico como aquellas que no fueron recubiertas presentaron valores descendientes de actividad antioxidante hidrofílica a lo largo del almacenamiento. Por el contrario, las muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela presentaron valores crecientes de actividad antioxidante durante los 12 días de almacenamiento.

Como se puede ver en la figura 3B, los valores de potencial antioxidante inicial de extractos lipofílicos de aguacate presentaron unos valores similares a los de los extractos hidrofílicos. Las muestras que presentaron un menor potencial antioxidante en los extractos lipofílicos fueron las recubiertas con formulaciones de alginato sódico.

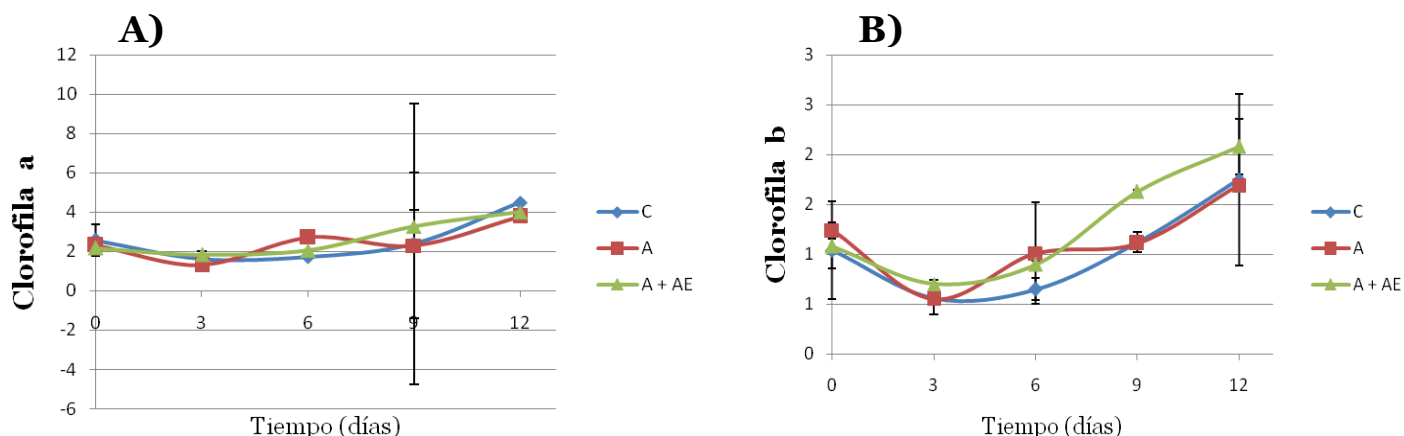
De acuerdo con los análisis de varianza realizados (tabla 7 del anexo), los recubrimientos aplicados afectaron significativamente ( $p < 0,05$ ) a los valores de capacidad antioxidante determinados mediante el método TEAC.

Por un lado, los valores de actividad antioxidante de extractos hidrofílico de aguacate presentaron una tendencia general hacia la disminución. Esto se observa especialmente en los trozos de fruta recubiertos con formulaciones de alginato sódico y los que no se recubrieron. En cambio, las muestras recubiertas con alginato y aceite esencial de citronela mantuvieron mejor el potencial antioxidante hasta el final de su almacenamiento, presentando valores más altos que las muestras sin recubrir.

Como se puede ver en la figura 3B, los valores de potencial antioxidante de extractos lipofílicos de aguacate fresco cortado presentaron una ligera tendencia hacia la disminución. No obstante, de acuerdo con los análisis de varianza realizados (tabla 8 del anexo), tanto el tiempo de almacenamiento como el tipo de tratamiento no afectaron significativamente ( $p > 0,05$ ) a la actividad antioxidante de los extractos lipofílicos obtenidos.

## Contenido en clorofilas a y b

Los valores de contenido en clorofilas a y b de trozos de aguacates sometidos a los diferentes tratamientos de conservación se pueden observar en la figura 4.



**Figura 4. Contenido de clorofilas a y b en muestras de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela**

En la Figura 4A se puede observar como las diferentes muestras presentaron un contenido inicial de clorofila a similar (2'57, 2'31 y 2'02 mg/100g PF).

De acuerdo con los análisis de varianza realizados (tabla 10 del anexo), el tiempo de almacenamiento afectó significativamente ( $p < 0,05$ ) al contenido de clorofila a de los trozos de aguacate fresco cortado presentando éste una ligera tendencia al aumento.

Por otro lado, las muestras recubiertas con formulaciones de alginato sódico y sin recubrir (figura 4B) fueron las que presentaron los mayores valores de contenido de clorofila b inicial (1'24 mg/100g PF).

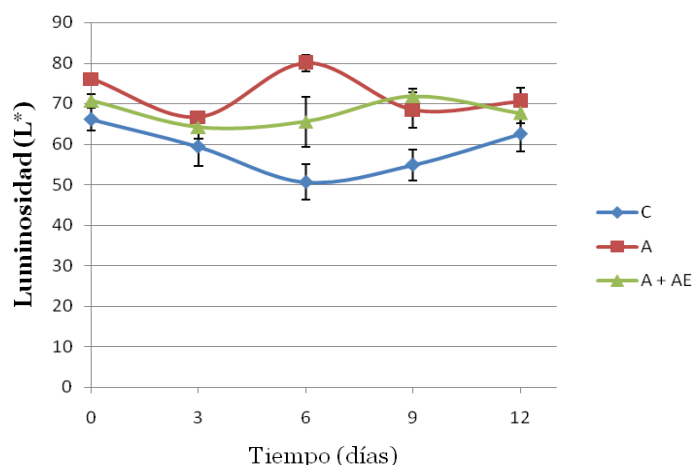
De acuerdo con los análisis de varianza realizados (tabla 11 del anexo), el tiempo de almacenamiento afectó significativamente ( $p < 0,05$ ) al contenido de clorofila b (figura 4B) de los trozos de aguacate fresco cortado, pudiéndose observar una tendencia general hacia el aumento lo largo del almacenamiento. Ello se observó

en los trozos de fruta recubiertos con alginato y aceite esencial de citronela, los cuales presentaron un contenido de clorofila b ligeramente superior al resto de las muestras.

## Color

Los resultados obtenidos para los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , que definen el color de las muestras de aguacate, se pueden observar en las figuras 5, 6 y 7.

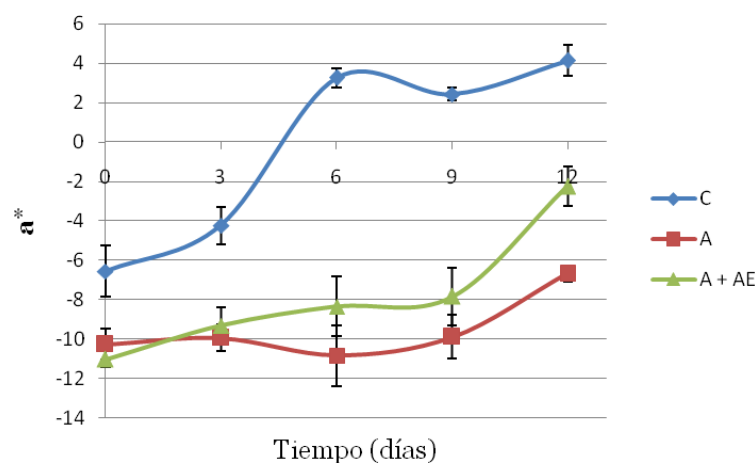
Como se puede ver en la figura 5, las muestras recubiertas con formulaciones de alginato sódico presentaron una mayor luminosidad inicial ( $76,10\% L^*$ ) que las muestras que no fueron recubiertas ( $66,12\% L^*$ ). Asimismo, a lo largo del almacenamiento los valores de luminosidad de los trozos de aguacate fresco cortado presentaron una tendencia general hacia la disminución.



**Figura 5. Luminosidad de los trozos de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela.**

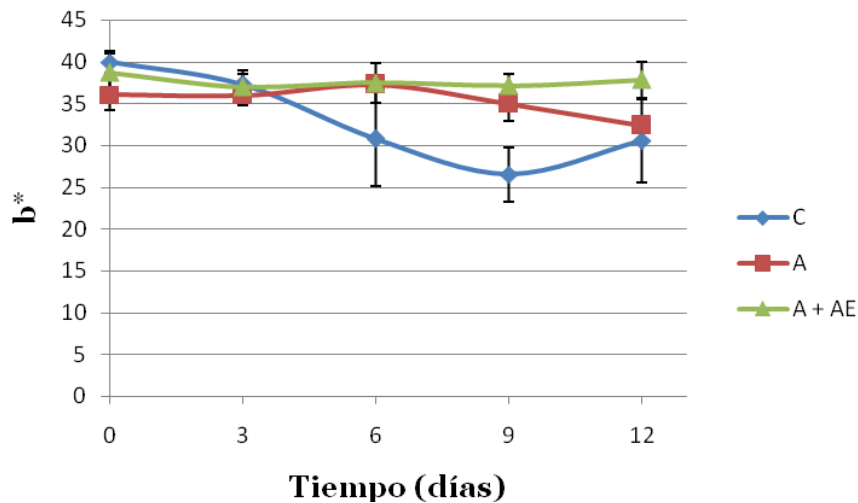
Tanto el tiempo de almacenamiento como el tipo de recubrimiento afectaron significativamente ( $p < 0.05$ ) a la luminosidad de las diferentes muestras (ver análisis de varianza en tabla 1 del anexo). Cabe destacar que los trozos de fruta recubiertos con alginato sódico presentaron valores de luminosidad superiores a lo largo de todo el almacenamiento. Por el contrario, las muestras sin recubrir presentaron los menores valores de luminosidad.

En cuanto al parámetro cromático  $a^*$ , relacionado con las tonalidades verde-rojizas de la muestra, cabe destacar que los trozos de aguacate sin recubrir inicialmente presentaron valores más próximos a tonalidades rojizas (6'57) y que las muestras con recubrimientos con formulaciones de alginato y aceite esencial de citronela fueron las que obtuvieron unos valores de  $a^*$  más bajos (-11'03), relacionados con un color más verde. Además, durante el almacenamiento, las muestras tuvieron un aumento de sus valores iniciales. El aumento de los valores de  $a^*$  puede verse reflejado en todas las muestras, pero cabe destacar que los trozos de fruta no recubiertos fueron los que presentaron mayores incrementos del parámetro  $a^*$ .



**Figura 6. Valores del parámetro cromático  $a^*$  en muestras de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela.**

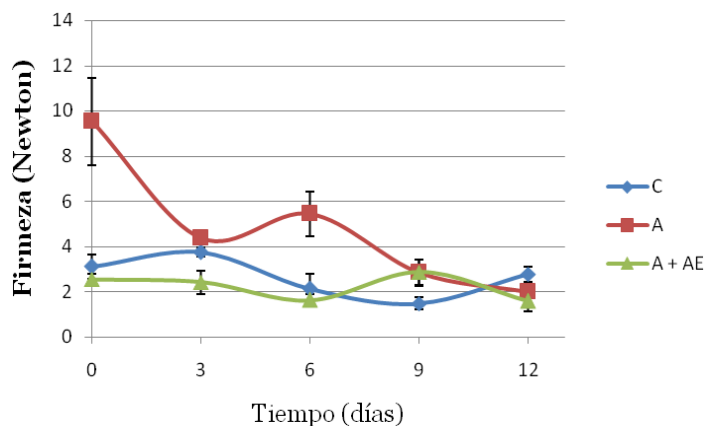
Con respecto al parámetro cromático  $b^*$ , relacionado con las tonalidades azul-amarillo, cabe destacar que las muestras sin recubrir presentaron valores más próximos a tonalidades amarillas (39'97) y las muestras recubiertas con formulaciones de alginato sódico fueron las que obtuvieron valores más bajos de  $b^*$  (36'07). Durante el almacenamiento, las muestras presentaron un descenso de sus valores iniciales. El descenso de los valores de  $b^*$  puede verse reflejado en todas las muestras, pero cabe destacar que los trozos de fruta recubiertos con alginato y aceite esencial de citronela fueron los que presentaron menores descensos del parámetro  $b^*$ .



**Figura 7. Valores del parámetro cromático  $b^*$  en muestras de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela.**

## Firmeza

Los valores de firmeza de los trozos de aguacate fresco cortado sometido a diferentes tratamientos de conservación se observan en la figura 8.



**Figura 8. Fuerza máxima de penetración de muestras de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela.**

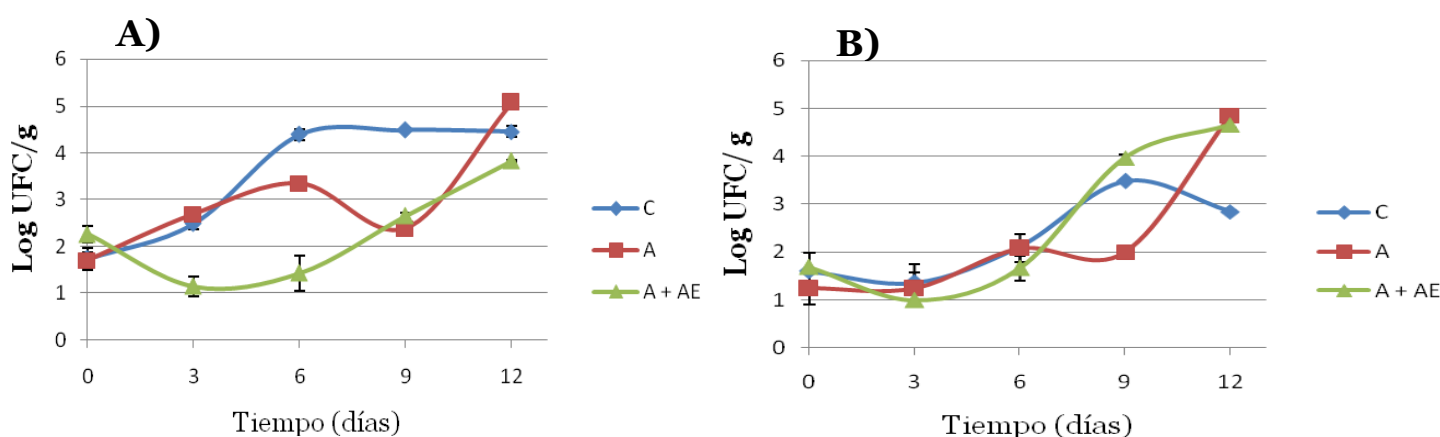


Las muestras recubiertas con formulaciones de alginato sódico inicialmente presentaron los valores de firmeza más altos (9'53 N) que las recubiertas con formulaciones de alginato y aceite esencial de citronela (2'55 N).

Las diferentes muestras de aguacate presentaron un descenso en la firmeza durante todo el almacenamiento. Además, cabe destacar que los trozos de aguacate recubiertos con formulaciones de alginato presentaron valores de firmeza significativamente ( $p < 0.05$ ) más altos a lo largo de todo el almacenamiento. Por el contrario, los trozos de aguacate sin recubrir fueron los que presentaron los valores de firmeza más bajos.

### Recuentos de microorganismos aerobios mesófilos y de hongos y levaduras

En la figura 9A se puede observar como los recuentos iniciales de microorganismos aerobios mesófilos son similares entre ellos. Se produjo un aumento progresivo de dichos recuentos presentando las muestras recubiertas con formulaciones de alginato y aceite esencial de citronela los valores más bajos a lo largo del almacenamiento.



**Figura 9. Recuento microorganismo aerobios mesófilos y de hongos y levaduras en muestras de aguacate fresco cortado conservado mediante el empleo de recubrimientos comestibles. C: muestras sin recubrir, A: muestras recubiertas con alginato sódico y A + AE: muestras recubiertas con alginato sódico y aceite esencial de citronela.**

Por otro lado, en la figura 9B se puede observar como los valores iniciales de hongos y levaduras son similares, es decir, la aplicación de los diferentes recubrimientos no afectó después del procesado. Durante el almacenamiento, todas las muestras presentaron a los recuentos un aumento de los valores iniciales independientemente del tratamiento aplicado.

## 6. Discusión

Los compuestos fenólicos desempeñan un papel muy importante en la prevención de muchas enfermedades degenerativas debido principalmente a sus características antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas. Por ello, la utilidad de los compuestos fenólicos en la dieta depende del nivel de su ingesta y biodisponibilidad (Poutanen, 2009)

En el presente trabajo, el contenido fenólico total de las muestras de aguacate fresco cortado presentó una tendencia general hacia la disminución. Sin embargo, las muestras recubiertas con formulaciones de alginato y aceite de citronela mantuvieron el contenido de compuestos fenólicos durante todo el almacenamiento. Esto puede ser debido a la composición del aceite esencial de citronela, que según algunos autores presenta cantidades relevantes de compuestos fenólicos y otras sustancias de naturaleza antioxidante (Balakrishnan, Paramasivam y Arulkumar, 2014). Por ello, la aplicación de los recubrimientos en presencia de aceite esencial de citronela pudo favorecer el mantenimiento del contenido fenólico durante todo el almacenamiento.

Villa-rodríguez et al (2011) observaron que el contenido en compuestos fenólicos totales aumentaba durante la maduración de aguacate, coincidiendo con un aumento en la producción de etileno por parte del fruto. La producción de etileno y el aumento de contenidos fenólicos se encuentran relacionados porque se activa la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) responsable de la síntesis de éstos compuestos. En nuestro estudio, no se produjeron aumentos significativos en el contenido en compuestos fenólicos durante el almacenamiento, lo cual puede ser indicativo de que ésta no se encontraba en la misma condición de madurez. Además la aplicación de los diferentes tipos de recubrimientos permitió limitar las consecuencias de los daños mecánicos infligidos al producto cortado inhibiendo, de ese modo, la activación de los mecanismos relacionados con la síntesis de compuestos fenólicos en la fruta.

Los valores de potencial antioxidante de las muestras de aguacate obtenidos mediante el método DPPH están de acuerdo con los reportados por Villa-rodríguez et al, (2011) en aguacate fresco entero donde se observó que la

actividad antioxidante de las diferentes muestras crecía con la maduración de la fruta. Por otro lado, la determinación del potencial antioxidante mediante el método TEAC presentó una tendencia diferente a la obtenida por el método del radical DPPH en que las muestras presentaron una tendencia general hacia el descenso. A pesar de las diferencias obtenidas en los valores de actividad antioxidante determinados por las dos metodologías, nuestras observaciones coincidieron con las de Villa-Rodriguez (2011), quienes también aportaron un descenso en los valores de capacidad antioxidante determinados por el método TEAC a lo largo del almacenamiento. Además, los valores obtenidos fueron similares a los reportados por Fu et al, (2011) en su estudio de capacidad antioxidante de aguacate mediante el método TEAC.

El ascenso en los valores de capacidad antioxidante de las muestras recubiertas con formulaciones de alginato y aceite esencial de citronela podrían explicarse por la presencia de compuestos antioxidantes en el aceite esencial de citronela. De acuerdo con lo reportado por Guimarães (2011), la aplicación de aceite esencial de citronela, por su composición, puede ser la responsable del aumento de la capacidad antioxidante. Balakrishnan, Paramasivam y Arulkumar (2014) llegaron a la misma conclusión al evaluar la capacidad antioxidante del aceite esencial de citronela y demostraron que su potencial antioxidante se debe en gran parte al contenido en compuestos flavonoides y terpenoides que presenta.

En cuanto a las características físicoquímicas, la variación en los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) fue indicativa de un claro oscurecimiento y pardeamiento de las muestras no recubiertas, lo cual puede asociarse a fenómenos de pardeamiento enzimático. Cabe destacar que las muestras recubiertas, y muy especialmente aquellas que incorporaron aceite esencial de citronela en las formulaciones, no mostraron signos visibles de pardeamiento durante todo el almacenamiento. La inhibición del pardeamiento puede explicarse por la incorporación de cisteína a la disolución entrecruzadora del recubrimiento. La cisteína es un compuesto organosulfurado con características antioxidantes que ha demostrado poseer un claro efecto inhibitor de los fenómenos de pardeamiento enzimático en frutas. Concretamente, actúa reduciendo las quinonas generadas por oxidación de los difenoles y formando agregados

incoloros que no pueden ser atacados por la enzima. Sapers y Douglas (1987) concluyeron que la efectividad de este compuesto en la prevención del pardeamiento de peras cortadas fue mayor en sistemas de pH neutros que bajo pH ácido. En el caso del aguacate, este hecho representa una clara ventaja, puesto que se trata de un fruto con un pH relativamente próximo a la neutralidad, a diferencia de lo que sucede con la mayoría de frutas. Por otro lado, el comportamiento observado fue similar al obtenido en otro estudio sobre muestras de aguacate (Giffoni y Fumes, 2012). Lopez-Malo et al. (1999) presentaron unos resultados similares en cuanto a los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de aguacate. En cuanto a la variación del parámetro cromático  $a^*$  demostraron en su estudio que podía verse afectado por cambios de temperatura y pH producidos durante el almacenamiento. Precisamente, los valores del parámetro cromático  $a^*$ , indicadores de tonalidades verdes y rojas son los más directamente relacionados con el contenidos en clorofilas. Los valores obtenidos para el contenido de clorofilas a y b están de acuerdo con los reportados por Aguiló-Aguayo, Oms-Oliu, Martín-Belloso y Soliva-Fortuny, (2014) en aguacate fresco cortado tratado con tratamientos de luz pulsada. No obstante, en su trabajo registraron incrementos iniciales que precedieron a una cierta disminución en el contenido en clorofilas a y b. En su estudio asociaron los descensos observados a los daños en las membranas de los tejidos vegetales, lo cual favoreció la acción de enzimas hidrolíticas. Se conoce que las clorofilas son fácilmente degradadas en condiciones adversas de iluminación y temperatura, siendo el estrés fotooxidativo una de las mayores causas de su pérdida durante el almacenamiento de los alimentos (Artés, Míñquez y Hornerno, 2002). No obstante, en el presente estudio los cambios observados en el color no se correlacionaron bien con la modificación en el contenido en clorofilas, pudiéndose atribuir únicamente a los fenómenos de pardeamiento enzimático.

Por lo que respecta a los valores de firmeza observados, cabe destacar que los valores de fuerza máxima de penetración de las muestras de aguacate fueron altamente dependientes del tipo de tratamiento aplicado. Los valores superiores obtenidos en las muestras sometidas a recubrimientos de alginato sódico podrían deberse a la interacción con las sales de calcio empleadas como agentes entrecruzadores de las cadenas de este biopolímero. Villa-rod  guez et al. (2011)

estudiaron la firmeza de aguacate fresco entero y obtuvieron resultados similares a los de nuestro estudio. Otros autores como HersHKovitz, Suguy y Pesis (2005) estudiaron la influencia del estado de madurez y de diversas condiciones de almacenamiento sobre la firmeza del fruto. No obstante, ello no explica las grandes diferencias observadas al inicio del almacenamiento entre muestras de aguacate recubiertas con alginato sódico y el resto de muestras, puesto que las materias primas fueron procesadas en un estado de madurez similar y almacenadas bajo las mismas condiciones ambientales.

Finalmente, la presencia de aceite esencial de citronela en los recubrimientos tuvo un efecto muy significativo sobre la microbiota nativa de los trozos de fruta recubiertos. La composición del aceite esencial de citronela permite explicar los recuentos más bajos obtenidos especialmente durante la primera semana de almacenamiento del producto mínimamente procesado. Dicho aceite esencial contiene una elevada concentración de terpenoides, especialmente de  $\alpha$ -citral y  $\beta$ -citral, que son compuestos con acción antimicrobiana demostrada frente a microorganismos tanto gram-positivos como gram-negativos (Lieman et al, 2009). El efecto bactericida y bacteriostático de estos compuestos ha sido ampliamente estudiado por Balakrishnan, Paramasivam y Arulkumar (2014) quienes observaron que extractos metanólicos de citronela presentaban una fuerte acción antimicrobiana frente a microorganismos patógenos de transmisión alimentaria.

## 7. Conclusiones

- El empleo de recubrimientos comestibles de alginato sódico formulados con la incorporación de aceite esencial de citronela favoreció la conservación del potencial antioxidante de aguacate mínimamente procesado durante su almacenamiento refrigerado.
- Las muestras recubiertas con formulaciones incluyendo aceite esencial de citronela presentaron un mayor contenido en compuestos fenólicos. El tiempo de almacenamiento afectó levemente al contenido de compuestos fenólicos totales del aguacate, presentando una tendencia a la disminución con el paso de los días.
- El color de los trozos de aguacate recubiertos con alginato se mantuvo similar al de la fruta recién procesada durante los primeros nueve días de almacenamiento a causa de la inclusión de cisteína como agente antioxidante. Contrariamente, las muestras no recubiertas experimentaron un rápido deterioro de su aspecto visual a causa de los fenómenos asociados al pardeamiento enzimático. En cambio, la alteración del color no se correlacionó con los cambios en el contenido de clorofilas a y b a lo largo del almacenamiento.
- Por otro lado, la firmeza de las muestras dependió en gran medida del tratamiento de conservación aplicado. Los trozos recubiertos con geles de alginato sódico sin incorporación de aceite esencial de citronela presentaron valores de firmeza muy superiores al resto.
- El empleo de recubrimientos comestibles de alginato sódico (1'25% p/v) con incorporación de aceite esencial de citronela (0'5% v/v) para la conservación de aguacate mínimamente procesado permitió una mejora de la calidad microbiológica del producto durante su almacenamiento.

## 8. Bibliografía

Aguiló-aguayo, I., Oms-oliu, G., Martín-belloso, O., & Soliva-fortuny, R. (2014). LWT - Food Science and Technology Impact of pulsed light treatments on quality characteristics and oxidative stability of fresh-cut avocado. *LWT - Food Science and Technology*, 1–7. doi:10.1016/j.lwt.2014.04.049

Andrés-Lacueva, C., Medina-Remon, A., Llorach, R., Urpi-Sarda, M., Khan, N., Chiva-Blanch, G., Zamora-Ros, R., Rotches-Ribalta, M., Lamuela-Raventós, M.R., (2010), Phenolic Compounds: Chemistry and Occurrence in Fruits and Vegetables, en *Fruit and Vegetables Phytochemicals*, editado por de la Rosa, L. A., Álvarez-Parrilla, E., González-Aguilar, G.A., USA: Ames, Iowa, 1ª edn, Wiley-Blackwell.

Artés, F., Míñquez, M.I., Hornerno, D. (2002). Analysing changes in fruit pigments D.B. MacDougall (Ed.), *Colour in food: Improving quality*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge , pp. 248–282.

Barbosa-Cánovas, G.V. y Bermúdez-Aguirre, D., (2011), Introduction, en *Nonthermal Processing Technologies for Food*, editado por Zhang, H.Q., Barbosa-Cánovas, G.V., Balasubramaniam, V.M., Dunne, C.P, Farkas, D.F, Yuan, J.T.C, USA: Ames, Iowa, 1ª edn, Wiley-Blackwell.

Barbosa-Cánovas, G.V., (2012), Películas y recubrimientos comestibles en contexto con otras tecnologías novedosas de conservación y procesado de los alimentos, en *Películas y recubrimientos comestibles*, editado por Olivas-Orozco, G.I., Gonzáles-Aguilzar, G.A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., México, D.F., CLAVE

Biesalski, H., Ph, D., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., D, M., Schrenk, D., ... Weber, P. (2009). Bioactive compounds : Definition and assessment of activity, 1–4. doi:10.1016/j.nut.2009.04.023

Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies : chemical aspects, 35, 279–284.



Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides : propiedades y acciones antioxidantes, 271–278.

De Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., Cano, M.P., (2011), Nutritional and Health Aspects of Fresh-Cut Vegetable, en *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing*, editado por Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., USA, CRC Press.

Fu, L., Xu, B., Xu, X., Gan, R., Zhang, Y., Xia, E., & Li, H. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits, 129, 345–350. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.079

Giffoni, J., & Fumes, F. (2012). CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE ABACATE “ FUERTE ” 1, 336–348.

Guimarães, L.G.L, Cardoso, M.G., de Sousa, P.E., de Andrade, J. y Vieira, S.S. (2011). Antioxidant and fungitoxic activities of the lemongrass essential oil and central Volume 42, Issue 2, 2011, Pages 464-472

Hall, M.N. and Pither, R.J, (1991) Influencia de la conservación por el calor sobre la calidad del producto, en *Procesado térmico y envasado de los alimentos*, editado por Rees, J.A.G., Bettison, J., España: Zaragoza, Acribia, S.A

HersHKovitz, V., Saguy, S. I., & Pesis, E. (2005). Postharvest application of 1-MCP to improve the quality of various avocado cultivars, 37, 252–264. doi:10.1016/j.postharvbio.2005.05.003

Leimann, F. V, Gonçalves, O. H., Machado, R. A. F., & Bolzan, A. (2009). Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. *Materials Science & Engineering C*, 29(2), 430–436. doi:10.1016/j.msec.2008.08.025

Lewis, M.J., (2006) Procesado térmico, en *Manual del procesado de los alimentos*, editado por Brennan, J.G., España: Zaragoza, Acribia, S.A.

Palou, E., & Barbosa-ca, G. V. (1999). Polyphenoloxidase activity and color changes during storage of high hydrostatic pressure treated avocado puree, *31*(8).

Poutanen, K. (2009). Rye phenolics in nutrition and health, *49*, 323–336. doi:10.1016/j.jcs.2009.01.007

Ramírez-Tortosa, M.C., Quiles-Morales, J.L., (2005), Vitamina c, vitamina e y otros antioxidantes de origen alimentario, en Tratado de nutrición, editado por Gil-Hernández, A., España: Barcelona ,Panamericana

Review, P. (2014). of the lemongrass plant ( *Cymbopogon citratus* ) extracted in different solvents for antioxidant and antibacterial activity against human pathogens E valuation, *4*(Suppl 1). doi:10.1016/S2222-1808(14)60428-X

Richardson, P.S., Campden, C., (2001) Introducción, en Tecnologías térmicas para el procesamiento de los alimentos, editado por Richardson, P., España: Zaragoza, 1ª edn, Acribia, S.A, Philip Richardson.

Santana, B. P., Nedel, F., Piva, E., Carvalho, R. V. De, Demarco, F. F., Lenin, N., & Carreño, V. (2013). Preparation , Modification , and Characterization of Alginate Hydrogel with Nano- / Microfibers : A New Perspective for Tissue Engineering, *2013*.

Sapers, G. M.; Douglas, F. W. (1987) Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. *Journal of Food Science*, *52* (5): 1258-1262.

Stahl, W., & Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids, *1740*, 101–107. doi:10.1016/j.bbadis.2004.12.006

Taylor, P., Dreher, M. L., & Davenport, A. J. (2013). Hass Avocado Composition and Potential Health Effects Hass Avocado Composition, (April 2014), 37–41. doi:10.1080/10408398.2011.556759

Vega-mercado, H., Martin-belloso, O., Qin, B., Chang, F. J., Gbngora-nieto, M. M., Barbosa-gnovas, G. V, & Swanson, B. G. (1997). Non-thermal food Pulsed preservation : electric fields, *81*(May).

Vidal-García, E,. (2009) Frutas, en Manual Práctico de Nutrición y Dietoterapia, editado por Vidal-García, E., 1a edn, Monsa Prayma.

Villa-rodríguez, J. A., Molina-corrall, F. J., Ayala-zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-aguilar, G. A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of “ Hass ” avocado. *FRIN*, *44*(5), 1231–1237.

## 9. Anexo

Tabla 1. Luminosidad

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	112'677	1	112'677	4'15	0'0443
<b>Tratamiento</b>	2425'28	2	1212'64	44'67	0'0000
<b>Residual</b>	2660'14	98	27'1443		
<b>Total (corregido)</b>	5185'95	101			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de luminosidad (L\*) según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	31	59'1435	0'935831	X
A + AE	34	67'8614	0'892629	X
A	37	70'8174	0'856526	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*2'95603		1'5213
A - C		*11'674		2'90531
A + AE - C		*8'71795'		1'47548

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 2. Variable a\* de color.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	609'423	1	609'423	132'11	0'0000
<b>Tratamiento</b>	1527'72	2	763'858	165'59	0'0000
<b>Residual</b>	456'679	99	4'61292		
<b>Total (corregido)</b>	2573'53	102			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de a\* según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
A	37	-9'67246	0'353055	X
A + AE	35	-7'99481	0'363055	X
C	31	-0'60034	0'385771	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*-1'67765		0'623134
A - C		*-9'0712		1'18687
A + AE - C		*-7'39447		0'601563

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 3. Variable b\* de color.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	316'577	1	316'577	29'31	0'0000
<b>Tratamiento</b>	252'979	2	126'49	11'71	0'0000
<b>Residual</b>	1069'23	99	10'8003		
<b>Total (corregido)</b>	1631'29	102			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de b\* según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	31	33'7776	0'590281	X
A	37	35'4961	0'540277	X
A + AE	35	37'6782	0'555522	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*-2'18208		0'953478
A - C		1'71852		1'81606
A + AE - C		*3'90061		0'920472

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

Tabla 4. Fenoles Totales

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	95'8781	1	95'8781	4'18	0'0000
<b>Tratamiento</b>	6616'79	2	3308'39	144'22	0'0000
<b>Residual</b>	1537'02	67	22'9406		
<b>Total (corregido)</b>	8315'65	70			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de fenoles totales según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	25	27'2453	0'957944	X
A	23	39'2882	1'00086	X
A + AE	23	50'7456	1'00047	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*-11'4574		1'74837
A - C		*12'0428		3'27362
A + AE - C		*23'5002		1'62411

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas



Tabla 5. Capacidad antioxidante, DPPH Hidrofílico.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	307'915	1	307'915	0'13	0'7229
<b>Tratamiento</b>	169958'0	2	84978'9	35'02	0'0000
<b>Residual</b>	145585'0	60	2426'42		
<b>Total (corregido)</b>	316155'0	63			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de DPPH hidrofílico según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	20	76'2795	11'9151	X
A	22	137'265	10'5022	X
A + AE	22	203'496	10'5031	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*-66'2315		18'3206
A - C		*60'9855		34'6827
A + AE - C		*127'217		17'6451

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

Tabla 6. Capacidad antioxidante, DPPH Lipofílico.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	1536'65	1	1536'65	2'49	0'1245
<b>Tratamiento</b>	23134'0	2	11567'0	18'77	0'0000
<b>Residual</b>	19103'7	31	616'247		
<b>Total (corregido)</b>	43585'8	34			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de DPPH lipofílico según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	11	83'9568	7'48501	X
A	11	93'4129	7'48501	X
A + AE	13	141'331	6'88562	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*-47'9184		12'5273
A - C		9'45618		23'7355
A + AE - C		*57'3746		11'944

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

Tabla 7. Capacidad antioxidante, ABTS Hidrofílico.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	14089'1	1	14089'1	2'92	0'0954
<b>Tratamiento</b>	319740'0	2	159870'0	33'1	0'0000
<b>Residual</b>	193194'0	40	4829'84		
<b>Total (corregido)</b>	524373'0	43			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de ABTS hidrofílico según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	15	292'54	17'9448	X
A	14	373'494	18'5749	X
A + AE	15	497'62	17'9472	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*-124'126		31'2052
A - C		*80'9537		59'6838
A + AE - C		*205'079		30'3247

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

Tabla 8. Capacidad antioxidante, ABTS Lipofílico.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	1583'41	1	1583'41	0'51	0'4791
<b>Tratamiento</b>	13876'2	2	6938'08	2'25	0'1229
<b>Residual</b>	92495'9	30	3083'2		
<b>Total (corregido)</b>	107373'9	33			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de ABTS lipofílico según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
A	13	239'506	15'4319	X
C	10	261'875	17'5697	XX
A + AE	11	287'883	16'753	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*-48'3772		29'016
A - C		-22'3686		55'6414
A + AE - C		26'0085		28'3908

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

Tabla 9. Firmeza.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	139'583	1	139'583	77'19	0'0000
<b>Tratamiento</b>	80'0779	2	40'039	22'14	0'0000
<b>Residual</b>	113'93	63	1'80841		
<b>Total (corregido)</b>	325'154	66			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de firmeza según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	21	2'61745	0'193454	X
A	21	3'52697	0'293902	X
A + AE	25	5'20889	0'269268	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*1'68192		0'508883
A - C		*2'59145		0'955201
A + AE - C		*0'909522		0'47486

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

Tabla 10. Clorofilas A

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	32'1906	1	32'1906	68'2	0'0000
<b>Tratamiento</b>	0'578855	2	0'289428	0'61	0'5443
<b>Residual</b>	35'4017	75	0'472022		
<b>Total (corregido)</b>	68'231	78			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de Clorofilas A según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	29	2'47084	0'127618	X
A	25	2'47916	0'137465	X
A + AE	25	2'65859	0'137408	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		-0'179434		0'231905
A - C		0'00831767		0'443117
A + AE - C		0'187752		0'223965

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

Tabla 11. Clorofilas B

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	7'33715	1	7'33715	36'62	0'0000
<b>Tratamiento</b>	0'961532	2	0'480766	2'4	0'0975
<b>Residual</b>	15'4286	77	0'200371		
<b>Total (corregido)</b>	23'5728	80			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de Clorofilas B según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	30	1'00391	0'0817971	X
A	26	1'12128	0'087847	XX
A + AE	25	1'26958	0'0895287	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		-0'148295		0'150608
A - C		0'117368		0'2872
A + AE - C		*0'265664		0'144715

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

Tabla 12. Aerobios Mesófilos

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	25'8833	1	25'8833	49'74	0'0000
<b>Tratamiento</b>	7'91587	2	3'95793	7'61	0'0021
<b>Residual</b>	16'1324	31	0'5204		
<b>Total (corregido)</b>	49'3099	34			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de aerobios mesófilos según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
A + AE	12	2'17462	0'208266	X
A	11	2'90552	0'217512	X
C	12	3'30874	0'20829	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*0'730901		0'366382
A - C		-0'40322		0'700353
A + AE - C		*-1'13412		0'355159.

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas



Tabla 13. Hongos y Levaduras

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Covariable: Tiempo</b>	29'3054	1	29'3054	63'12	0'0000
<b>Tratamiento</b>	1'34603	2	0'673016	1'45	0'2524
<b>Residual</b>	12'5354	27	0'464275		
<b>Total (corregido)</b>	43'4396	30			

Los valores de F se basan en el error cuadrático medio

Prueba de rangos múltiples para los valores de Hongos y Levaduras según tratamiento.

Método: 95'0% LSD				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>LS Mean</b>	<b>LS Sigma</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
C	11	2'2236	0'205457	X
A	11	2'30776	0'205527	X
A + AE	9	2'71812	0'227166	X
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>		<b>+/- Límites</b>
A - A + AE		*-0'410365		0'38785
A - C		0'0841555		0'739027
A + AE - C		*0'494521		0'37549

\*Indica las diferencias estadísticamente significativas

